

COMMUNICATIONS

Le contrôle sanitaire du lait

I. — Inspection préventive du lait pasteurisé

par G. THIEULIN et D. BASILLE

Le contrôle sanitaire du lait comprend un ensemble d'opérations dont les modalités et les techniques doivent être adaptées, dans chaque cas, au but particulier poursuivi.

Ce contrôle s'étend normalement de la production, stade initial, au moment final représenté pratiquement par la remise du précieux liquide au consommateur.

Si la chaîne est continue, il apparaît cependant nécessaire de sérier les problèmes, dont l'un des plus importants est sans nul doute, celui que pose l'approvisionnement des centres urbains.

Tenant compte, à la fois, des incertitudes de la production, de la nécessité de réaliser cette production dans des conditions, certes de plus en plus améliorées mais ne cessant pas, toutefois, d'être économiques, et enfin des nécessités et servitudes imposées par une commercialisation délicate, le lait pasteurisé figure à juste titre et au premier chef, un lait « hygiénique ».

La garantie offerte par cette fourniture découle d'une technique éprouvée, et repose sur une inspection rationnelle.

Des épreuves bactériologiques classiques sont à même de nous renseigner *a posteriori* sur la qualité du lait pasteurisé, mais il est d'une extrême importance de pouvoir, au plus tôt, intervenir de façon préventive, afin d'empêcher la distribution et la consommation d'un lait pasteurisé suspect ou dangereux.

Une protection efficace, le conditionnement en bouteille capsulée, par exemple, permet de conserver au lait assaini les bénéfices de la pasteurisation. Cette condition étant remplie, il est indispensable de contrôler dans les plus brefs délais la pasteurisation elle-même.

Les progrès de la technique ont mis, entre les mains de l'hygiéniste, les moyens d'éviter ou de reconnaître rapidement, d'une part l'un des deux, d'autre part les deux motifs essentiels d'insalubrité du lait pasteurisé, à savoir : la sous-pasteurisation et la

recontamination par du lait cru. La mise en œuvre de ces moyens permet d'établir, indépendamment du contrôle éducatif et répressif habituel, dont il sera parlé ultérieurement, l'inspection préventive de salubrité des laits pasteurisés.

En premier lieu, un agencement mécanique : la thermographie.
En second lieu : l'épreuve de la phosphatase.

1° La THERMOGRAPHIE.

Les progrès récents de la pasteurisation industrielle sont dus, avant tout, à l'introduction d'un automatisme de plus en plus rigoureux dans la conduite des opérations. Ces perfectionnements mécaniques ont réduit la part d'erreur imputable aux défaillances du personnel.

Ainsi, les appareils modernes de pasteurisation sont pourvus d'un dispositif de sécurité : la valve de diversion ou vanne de dérivation.

Si, à la sortie du chambreur, où s'effectue pendant un temps reconnu suffisant le maintien du lait à une température donnée, le lait pasteurisé n'atteint pas ce degré de température fixé, le circuit est fermé automatiquement et le lait repasse dans le pasteurisateur, tandis qu'un dispositif d'alarme est déclenché.

Degré de température du lait et mouvements de la vanne de dérivation s'inscrivent continuellement sur un graphique.

L'examen de ce document permet donc de connaître, même rétrospectivement et pour n'importe quel moment, la température du lait et la position de la valve de diversion. Il suffira, dès lors, de contrôler l'enregistreur-transmetteur de température, par référence à un thermomètre-témoin, pour savoir si les normes de la pasteurisation ont été respectées, au moins en ce qui concerne le degré de température.

Pour la durée même du chauffage, le contrôle se bornera à vérifier le débit des appareils, car la durée du chambrage reste constante, dans chaque installation, tant que le débit ne varie pas. L'appareil une fois étalonné, il ne sera donc plus nécessaire de procéder à une nouvelle détermination du temps de chambrage qu'au cas où une modification du débit serait constatée.

2° L'ÉPREUVE DE LA PHOSPHATASE.

Jusqu'en 1933, le contrôle biochimique de la pasteurisation était basé sur la recherche de la peroxydase, selon les méthodes bien connues de DUPOUY, au gaïacol, et de STORCH, à la paraphénylènediamine.

La courbe de destruction de cette diastase se situe fortement au-dessus de celle de la pasteurisation idéale, cette dernière garantissant la destruction des germes pathogènes du lait cru et en particulier du bacille de Koch.

Une réaction négative implique donc une large marge de sécurité relativement au degré de température atteint, mais cette méthode est peu sensible à la recontamination du lait pasteurisé par du lait cru. D'autre part, elle peut permettre une confusion si le lait est souillé par certaines impuretés métalliques.

Enfin, la possibilité maintenant offerte de disposer de matériels et réactifs étrangers, non fabriqués en France, lui enlève de son intérêt au profit de la technique de plus en plus utilisée dans le monde entier : l'épreuve de la phosphatase.

La phosphatase alcaline est une enzyme toujours présente dans le lait cru, et constamment inactivée par une pasteurisation correcte. En 1933, H.-D. KAY et W.-R. GRAHAM ont tiré de cette propriété, un remarquable test de contrôle de l'efficacité de la pasteurisation industrielle du lait.

Les travaux de ces auteurs dérivent de l'observation suivante : si l'on construit, en fonction des coordonnées « température et temps de chauffage », d'une part, une courbe de destruction des bactéries susceptibles de rendre un lait dangereux à consommer, et d'autre part une courbe d'inactivation de la phosphatase, on constate qu'il existe, à tous les niveaux, une marge de sécurité nette entre les deux courbes. Pour une température donnée, la durée de temps nécessaire pour détruire la flore microbienne pathogène est plus courte que la durée nécessaire pour inactiver la phosphatase. Pour un temps de chauffage donné, la température suffisante pour détruire les germes pathogènes du lait est inférieure à la température nécessaire pour inactiver la phosphatase. Précisons que, par flore pathogène, on entend ici les micro-organismes capables d'engendrer effectivement des troubles chez l'homme dans les conditions normales et habituelles entourant la consommation du lait.

Le test de KAY et GRAHAM apporte donc une indication capitale sur la qualité du lait pasteurisé puisqu'il dénonce les deux principales causes d'insalubrité de ce produit, la sous-pasteurisation et la recontamination par du lait cru.

Cependant, l'inspection préventive du lait pasteurisé est une véritable course contre la montre. Elle ne s'accommode pas du délai de 24 heures nécessaire pour exécuter l'épreuve classique de KAY et GRAHAM.

A diverses reprises, des techniques plus rapides et plus simples

ont été proposées, répondant au même but. En particulier, ASCHAFFENBURG et MULLEN ont mis au point un protocole de réalisation de l'épreuve de la phosphatase dans des conditions de temps et de précision remarquables. Le point de départ en est l'observation suivante, faite en 1946 par BESSEY, LOWRY et BROOK : le paranitrophénylphosphate disodique est incolore en solution alcaline ; il est rapidement hydrolysé par la phosphatase ; le produit de l'hydrolyse, le paranitrophénol, est jaune en solution alcaline ; l'intensité de la couleur jaune témoigne de l'activité de la diastase.

A partir de cette observation, ASCHAFFENBURG et MULLEN proposèrent, en 1949, un nouveau test, réalisable en deux heures, pour la mise en évidence de la phosphatase dans le lait.

En 1950, TRAMER et WIGHT comparèrent les résultats du nouveau procédé avec ceux de la méthode classique de KAY et GRAHAM. Ils proposèrent une interprétation adéquate des résultats.

En 1953, ASCHAFFENBURG introduisit un dernier perfectionnement dans la formule de la solution tampon, dont l'effet fut de rendre le réactif plus stable et moins onéreux.

Les méthodes ordinaires de la colorimétrie sont applicables à l'épreuve rapide de la phosphatase. Cependant, dans le but d'unifier l'interprétation des résultats, il paraît souhaitable que tous les laboratoires puissent adopter un matériel normalisé et une technique uniforme. TRAMER et WIGHT ont créé les disques APTW dans lesquels sont insérés des verres colorés inaltérables ; à ces couleurs de référence correspondent des valeurs indiquées en microgrammes de paranitrophénol libéré par millilitre de lait. Le disque APTW3 comporte 5 couleurs de référence correspondant respectivement à 0, 6, 10, 18 et 42 microgrammes de paranitrophénol. Le disque APTW7 donne, en plus, deux valeurs intermédiaires, 14 et 25.

Le mode opératoire approprié à l'interprétation proposée par TRAMER et WIGHT est le suivant :

Matériel spécial :

1° Un comparateur de Lovibond pourvu de son socle (resazurin stand), équipé d'un disque APTW et de deux cuves parallélépipédiques de 25 mm d'arête (glass cells) (1) (2).

2° Des tubes à essais de 150 mm de hauteur et de 15,5 de dia-

(1) Pouvant être obtenu à : Astell Laboratory Service Co Ltd, 172 Brownhill Road, Catford London, SE 6.

(2) Pouvant être obtenu à : Tintometer Limited, Salisbury, England.

mètre extérieur pour 13,5 mm de diamètre intérieur, en verre rigoureusement incolore (6'' x 5/8'' test tubes) (1) (2).

3° Des bouchons de caoutchouc, exempt d'impuretés phénoliques (bacteriological seals) (1).

4° Un poussoir pour placer les bouchons de caoutchouc en évitant le contact des doigts (1).

5° Un bain-marie à thermostat réglé à 37° C.

6° Une pipette de 5 ml pour mesurer le réactif, et des pipettes de 1 ml pour distribuer les échantillons de lait.

Toute la verrerie devra être chimiquement propre, séchée et conservée à l'abri de la poussière. Les bouchons de caoutchouc seront soigneusement ébouillantés dans l'eau distillée avant usage ; toute contamination par la salive sera évitée lors des transferts de liquides à la pipette.

Réactif :

Préparer une solution-tampon selon la formule suivante :

Carbonate de sodium anhydre.....	3,5 g
Bicarbonate de sodium.....	1,5 g
Eau distillée.....	1 litre

Placer 0,15 g de paranitrophénylphosphate disodique (1) (3) ($\text{Na}_2 \text{C}_6 \text{H}_4 \text{NO}_2 \text{PO}_4$) dans une fiole jaugée, compléter à 100 ml avec la solution-tampon ci-dessus. Le réactif peut être conservé sans altération pendant plusieurs jours à la glacière. Récuser un réactif qui, placé dans la cuve de 25 mm, donnerait une lecture de plus de 10 au comparateur équipé du disque APTW, une cuve semblable remplie d'eau distillée étant placée sous le verre coloré.

Manipulation :

Préparer un témoin négatif en faisant bouillir une petite quantité du lait à analyser.

Transférer 5 ml du réactif dans deux tubes respectivement, boucher les tubes et les porter à 37° au bain-marie pendant 3 minutes. Ajouter 1 ml du lait-témoin dans l'un des tubes et 1 ml du lait à éprouver dans l'autre. Replacer les bouchons de caoutchouc. Mélanger. Remettre les tubes au bain-marie.

Lecture.

Effectuer une première lecture après 30 minutes d'incubation

(1) Pouvant être obtenu à : Astell Laboratory Service Co Ltd, 172, Brownhill Road, Catford, London, SE 6.

(2) Pouvant être obtenu à : Tintometer Limited, Salisbury, England.

(3) Pouvant être obtenu à : British Drug Houses Ltd, Poole, Dorset, England.

à 37° C et une seconde lecture après 2 heures de séjour au bain-marie. Pour effectuer la comparaison colorimétrique, agiter les tubes, placer le tube-témoin sous le disque coloré et l'autre tube sous l'ouverture centrale. Orienter l'appareil vers une source de lumière naturelle diffuse. Faire tourner le disque jusqu'à égalisation des teintes sur chacun des deux tubes. Lire l'indication qui apparaît dans le voyant : le nombre correspond à autant de microgrammes de nitrophénol libérés par millilitre de lait.

Interprétation.

TRAMER et WIGHT ont proposé l'interprétation suivante :

Première lecture (après 30 minutes à 37°) :

0.....	Lait correctement pasteurisé.
6.....	Lait suspect.
10 ou plus.....	Lait sous-pasteurisé.

Seconde lecture (après 2 heures à 37°) :

De 0 à 10.....	Lait correctement pasteurisé.
Plus de 10 à 18.....	Légèrement sous-pasteurisé.
Plus de 18 à 42.....	Sous-pasteurisé.
Plus de 42.....	Gravement sous-pasteurisé.

L'interprétation proposée par TRAMER et WIGHT est appropriée aux normes anglaises de la pasteurisation basse (chauffage pendant 30 minutes à 62°,8 au moins et 63°,6 au plus) et de la pasteurisation rapide à haute température (chauffage pendant 15 secondes au moins à 71°,7 au moins).

Les normes de la pasteurisation n'ont pas été officiellement fixées en France jusqu'à ce jour, et les habitudes adoptées dans les différentes usines manquent d'uniformité. Mais, on peut affirmer que les laits pasteurisés français sont régulièrement soumis à des degrés de chauffage très supérieurs aux normes de la pasteurisation anglaise, au moins en ce qui concerne la pasteurisation haute, et l'on sait que ce procédé est, de beaucoup, le plus employé en France. Ces laits sont, chez nous, pasteurisés à des températures comprises entre 85° et 95°. A cette température, l'inactivation de la phosphatase alcaline est totale et instantanée, et aucune réactivation n'est à redouter, dans les délais et les conditions de l'expertise prévue pour l'inspection préventive.

Tant que ces habitudes seront maintenues, et à plus forte raison si elles étaient entérinées officiellement, il n'y aurait sans doute pas d'inconvénient à augmenter un peu la sévérité de

l'interprétation des résultats du test d'ASCHAFFENBURG et MULLEN, pour les laits ayant subi la pasteurisation haute. On pourrait, par exemple considérer comme sous-pasteurisé un lait qui libérerait plus de 6 microgrammes de paranitrophénol en 2 heures. Une expérience basée sur quelque mille examens pratiqués sur les fournitures concourant à l'approvisionnement de l'agglomération parisienne nous a révélé que nos laits pasteurisés donnent couramment des lectures de 0 (microgramme de nitrophénol par millilitre de lait) après 2 heures d'incubation.

Dépistage des recontaminations par le lait cru.

Des études expérimentales, portant sur des dilutions de lait cru dans du lait correctement pasteurisé ont montré que la méthode d'ASCHAFFENBURG et MULLEN permettait de déceler, dans la pratique, des contaminations par le lait cru de l'ordre de 1 pour cinq cents, lorsque la lecture est effectuée après 2 heures d'incubation.

Nous avons répété, sur une plus petite échelle, les expériences d'ASCHAFFENBURG et MULLEN, à l'effet de vérifier si leurs conclusions s'appliquaient aux conditions dans lesquelles nous nous trouvions placés.

Nous avons dilué trois laits crus de faible mélange, provenant d'étables de nourrisseurs du département de la Seine (effectifs de 15 à 25 animaux), dans trois laits pasteurisés certifiés. Nous avons obtenu les résultats suivants :

PROPORTION DE LAIT CRU ajouté au lait pasteurisé	ÉCHANTILLON N° 1		ÉCHANTILLON N° 2		ÉCHANTILLON N° 3	
	30 minutes	2 heures	30 minutes	2 heures	30 minutes	2 heures
1 pour 10	42	42 +	42 +	42 +	42 +	42 +
1 pour 50	25	42 +	42	42 +	42	42 +
1 pour 100	10	42	25	42	25	42 +
1 pour 200	6	25	— (1)	—	—	—
1 pour 300	0	18	—	—	—	— (1)
1 pour 500	0	14	6	14	14	18
1 pour 1.000	0	10	0	6	6	10
Lait cru	42 +	42 +	42 +	42 +	42 +	42 +
Lait pasteurisé	0	0	0	0	0	0

(1) Lectures jugées inutiles, dans l'expérimentation réalisée.

Les résultats obtenus s'inscrivent dans le cadre des notions antérieurement vérifiées par d'autres expérimentateurs. Ils confirment que le test d'ASCHAFFENBURG et MULLEN permet de déceler, en 2 heures, des contaminations par le lait cru, de l'ordre de 1 pour cinq cents, si l'on s'en tient à l'interprétation classique de TRAMER et WIGHT, considérant comme positives les notations supérieures à 10 (microgrammes de nitrophénol).

Nous avons souligné précédemment qu'il n'y aurait probablement pas de contre-indication à considérer comme positive, pour nos laits surpasteurisés français, toute notation supérieure à 6 après 2 heures. Dans ce cas, les recontaminations par le lait cru de l'ordre de 1 pour mille seraient également dénoncées.

CONCLUSION

L'inspection préventive du lait pasteurisé est réalisable :

1° Pendant la pasteurisation même, grâce à un aménagement mécanique des appareils de chauffage et au contrôle de leur fonctionnement, par thermographie.

2° Dès la pasteurisation, le résultat étant obtenu dans un délai de 2 heures au maximum, grâce au contrôle direct de l'opération par l'épreuve de la phosphatase, selon le procédé d'ASCHAFFENBURG et MULLEN, que nous croyons pouvoir préconiser.

Cette inspection préventive est capable d'empêcher la distribution et la consommation d'un lait sous-pasteurisé ou recontaminé par du lait cru, c'est-à-dire d'un lait suspect ou dangereux.

Pour avoir son plein effet, elle doit être appliquée, non seulement par les Services officiels de contrôle, mais également, et en collaboration, par les techniciens responsables des ateliers de pasteurisation, en vue de leur propre sauvegarde.

(Laboratoire départemental du contrôle sanitaire du lait, des œufs et des produits laitiers — Services vétérinaires de la Seine.)

BIBLIOGRAPHIE ESSENTIELLE

- KAY (H.-D.) et GRAHAM (W.-R.) JUNIOR. — *Journ. Dairy Research.*, 1935, 6, 191.
 BESSEY (O.), LOWRY (O.-H.) et BROOK (M.-J.). — *Journ. Biol. Chemistry*, 1946, 164-324.
 THIEULIN (G.) et VUILLAUME (R.). — *Éléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait*, 2^e édition. Paris, 1948, 96 et 163.
 ASCHAFFENBURG (R.) et MULLEN (J.-E.C.). — *Journ. Dairy Research.*, 1949, 16, 58, 67.
 TRAMER (J.) et WIGHT (J.). — *Journ. Dairy Research*, 1930, 17, 194, 199.
 WIGHT (J.) et TRAMER (J.). — *Dairy Indust.*, 1932, 17, 54, 56.
 ASCHAFFENBURG (R.). — *Dairy Indust.*, 1933, 18, 316.

Discussion

M. ROBIN. — Existe-t-il des sanctions légales contre les ateliers de pasteurisation qui laissent ainsi partir des laits insalubres ?

M. BASILLE. — Le décret du 26 avril 1939 sur le contrôle des ateliers de pasteurisation prévoyait la possibilité de fermeture provisoire d'un atelier de pasteurisation après trois avertissements et une expertise dont les modalités n'ont pas encore été fixées. Par conséquent, il a été impossible de prendre légalement les sanctions envisagées.

M. ROBIN. — N'y aurait-il pas possibilité de prendre des sanctions comme en matière de viande où vous retirez la viande de la circulation ?

M. BASILLE. — C'est en effet la seule solution dont nous disposions à l'heure actuelle à titre préventif ou répressif en vertu de la loi municipale qui permet de confisquer une denrée reconnue insalubre.

M. LE PRÉSIDENT. — Au *Journal Officiel* de ce matin, 9 juin 1935, vient de paraître un texte qui remplace le décret du 26 avril 1939 mais les bases en sont les mêmes. Au point de vue des sanctions, les nouvelles dispositions sont à notre avis, tout aussi illusoire en ce sens que la sanction administrative comportant la fermeture éventuelle, provisoire, de l'atelier, ne peut être prononcée qu'après au moins trois observations, faites en moins d'une année, et suivies d'une expertise contradictoire, le tout assorti de délais au cours desquels des protestations et explications peuvent être émises, cependant que le même lait, reconnu de mauvaise qualité continue toujours d'être distribué. L'intérêt des méthodes d'inspection préventive réside justement dans la possibilité d'intervenir d'une autre façon.

Dans les cas précis relatés dans notre communication, il s'agissait de distributions spéciales de lait résultant d'un contrat. Dans un contrat on peut inclure les dispositions d'un cahier des charges et permettre l'intervention en temps voulu. D'autre part, nous pouvons utiliser les pouvoirs des Maires et des Préfets, en vertu des lois de 1884 et de 1902, ce qui permet, avec de telles bases, de rapprocher l'inspection du lait de celle d'autres denrées alimentaires. C'est pourquoi nous incitons nos confrères à intervenir par d'autres moyens que ceux-ci qui, depuis ce matin, semblent être mis à la disposition des services de contrôle.

M. GUILLOT. — Est-ce que le système de vannes dont a parlé M. BASILLE, permettant le retour du lait insuffisamment chauffé est actuellement répandu en France ?

M. BASILLE. — Quelques ateliers, mais très peu, possèdent ce système. Il était question de le rendre obligatoire en Angleterre, nous ne savons pas si la chose est réalisée. D'autre part, il faut dire que ce système nécessite un second contrôle car après avoir enregistré la température il faut encore vérifier si l'enregistreur de température est bien réglé, et par conséquent le confronter avec un thermomètre témoin.

M. LE PRÉSIDENT. — Une seconde critique que nous croyons devoir faire au texte paru ce matin au *Journal Officiel*, est motivée par le fait qu'il n'a pas été tenu compte de ces conditions préalables d'installation qui, encore plus tôt que le test de la phosphatase, permettent de présumer d'une pasteurisation effective.

M. BASILLE. — Les méthodes de l'inspection préventive sont simples et rapides : par conséquent un industriel peut faire son propre contrôle, c'est-à-dire au moins essayer d'avoir une idée de la qualité du lait pasteurisé qu'il livre, ce qui peut éviter bien des incidents.

M. GUILLOT. — Est-ce que les disques colorés et les réactifs nécessaires à la réaction rapide de la phosphatase se trouvent facilement dans le commerce en France et peuvent être employés dans tous les laboratoires moyens ?

M. BASILLE. — On peut se les procurer très facilement et directement en Angleterre. On peut également passer par les importateurs français, mais on les obtient alors à un prix un peu plus élevé. Par ailleurs, la technique préconisée est à la portée des laboratoires moyens.
